

Quick Guide

Beyond the PCR technology, BIOFACT promises the progress for your research.



[M13(-47)F, (-48)R]

All in one Colony PCR Pre-Mix [Lyophilisates]

[Cat. No. IT102B-096]

Contents	IT102B-096
All in one Colony PCR Pre-Mix (M13(-47)F/M13(-48)R)	Lyophilized PCR Tube(0.2 ml) (8 Strip x 12 EA)

제품 특징 (Feature)

- Mixture 구성품: Taq polymerase, dNTP's, reaction buffers, primer, tracking dye, enhancers and stabilizers are lyophilized
- 대량 샘플을 반복적으로 증폭할 경우 각 tube마다 편차를 최소화하여 재현성 높임.
- PCR 효율의 극대화를 위해 Premix 조성 최적화.
- 각 PCR tube내에 PCR 증폭에 필요한 모든 구성성분이 포함되어 Template와 DW만 넣고 신속하고 간편하게 실험
- Exceptionally pure Taq DNA Polymerase
- 제품 응용: Colony PCR → TA cloning, Gene Sequencing
M13(-47)F, M13(-48)R Primer → Routine PCR (< 3 Kb)

LYOFACT™ All in one Colony PCR Pre-Mix (Primer Mixture)

No.	Gene	Size	Color	Cat. No.
1	Vector Primer	< 3 Kb		IT102B-096

[Primer Sequence]

Primer Name	Sequence	Base
M13(-47)F	CGCCAGGGTTTCCCATGTCACGA	23
M13(-48)R	AGCGGATAACAATTTCACACAGGA	24

제품 보관(Storage)

- Store at -20°C ± 5°C in an aluminium coated bag or on another dry place; humidity < 65 % when sealing is opened

Prevention of PCR Amplification

- 증폭 반응 준비할 때 false positive 오염 가능성을 줄이는 방법
 - 샘플 및 반응 혼합물 준비하는 구역과 PCR cycling 구역을 각각 별도의 깨끗한 장소를 권장 합니다.
 - 새 장갑, 필터가 있는 파이펫팅, 멸균된 튜브를 사용합니다.
 - DNase / RNase free 와 nuclease가 없는 물과 시약만 사용합니다.
 - 모든 PCR 진행 시 template DNA를 넣지 않는 negative control을 동시에 수행합니다.

PCR Mixture & Cycle

PCR Mixture (Reaction vol. : 30 µl)	
All in one Colony PCR Pre-Mix	1 tube
1ea Colony or Plasmid DNA	< 10 ng
Add D.W to	30 µl

Cycle*		
[3-Step cycling protocol]		
95°C	2 min	X 1
95°C	20 sec	} X 30 ~ 35
56°C	40 sec	
72°C	1 min / Kb	
72°C	5 min	X 1
8°C	∞	

[Troubleshooting]

- Genomic DNA 추출 방법에 따라 DNA 순도 차이에 의한 PCR inhibition이 발생될 수 있습니다. Cell lysate(Crude gDNA)로 PCR 반응 시 DNA 양을 조절하여 적정량 사용하도록 권장합니다.

Expiration Date : -20°C ± 5°C 보관 시 1년



Please contact us, if you have any question and need help.
T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2021. 02. 15 (설명서 개정일)



주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 1년이다.
- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 보증한다.
- 실험자의 잘못된 사용이나 부주의로 인해 문제가 발생하였을 경우에는 교환이 되지 않는다.



안전경고 및 응급조치 요령

- 눈, 호흡기, 피부 접촉을 피한다.
- 눈에 들어갔을 때 : 흐르는 물로 눈을 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 피부에 접촉 시 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 장갑 착용 후 사용할 것.



사용자 유의사항

- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 냉동 제품을 자주 열리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작은 정해진 순서에 따라 정확히 하여야 하며, 키트는 개봉 후 즉시 사용한다.
- 분리된 검체 DNA/RNA 상태에 따라 상이한 결과를 보일 수 있다.
- 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의한다.



알림.

- Genomic DNA / Plasmid DNA / Total RNA는 사용하는 Primer의 종류에 따라 다양한 농도로 사용할 수 있다.
- NTC (Non-Template Control)을 이용하여 실험 환경내의 오염을 확인하도록 한다.
- * 실험의 마지막 단계에서 적정량의 DNA / RNA template를 넣어 준다. NTC에는 template대신 RNase / DNase free water를 넣어 Negative control로 사용한다.



참고사항.

Template 종류에 따른 사용량 (PCR Cycles)

- Animal genomic DNA : 50 ng ~ 200 ng (30 ~ 35 cycles)
10 ng ~ 50 ng (30 ~ 40 cycles)
- Bacterial genomic DNA : 10 ng ~ 50 ng (30 ~ 35 cycles)
1 ng ~ 5 ng (30 ~ 40 cycles)
- Plasmid and Lamda DNA : 1 ng ~ 5 ng (30 ~ 40 cycles)



Troubleshooting Guide

(주) 바이오팩트 사용 시 먼저 check해 주세요.

- dNTP 농도 Check:** (주) 바이오팩트 dNTP Mix의 농도는 each 10mM입니다.
Reaction Vol. 50 µl 기준 dNTP (each 10mM) 1 µl를 사용합니다.
- Enzyme 농도 Check:** Reaction Vol. 50 µl 기준 1.25 Unit을 사용합니다.
- Band Helper™ 농도 조절:** DNA 구조적인 문제 시 Final 0X~2X 로 조절하여 사용합니다.



Low yield or No Band

- Pure template quality**
 - 01. DNA purity check**
DNA template의 260/280 ratio를 통한 DNA 순도를 측정하여 1.8 ~ 2.0 범위의 DNA를 사용하도록 합니다.
- 온도/시간 check**
 - 01. Annealing Temperature(AT) check**
Tm=(A+T) X 2 + (G+C) X 4, AT=Tm-(4~6°C) 이 산출법으로 설정 후 에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다.
 - 02. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)**
 - 03. Extension time Check**
일반적으로 0.5~1 min/kb로 설정. 단, Pfu는 1~2min/kb
- Template Primer Check**
 - 01. Primer degradation check**
Primer dilution 후 4°C에서 장기간 보관 시 분해되어 PCR에 영향을 줄 수 있습니다. 새로 dilution하거나 제작하여 사용합니다.
 - 02. Starting template check**
보관상태가 불량하거나 농도가 낮은 경우, quality가 낮은 경우 문제가 발생할 수 있습니다. 새로 prep하거나 사용량을 늘립니다.



Smear Band

- 농도 check**
 - 01. Template 농도 check**
Template를 serial dilution하여 사용합니다.
- PCR condition check**
 - 01. Extension time Check**
Extension time이 적정시간보다 길 경우, target size보다 긴 단편들이 형성되어 smear될 수 있습니다.
 - 02. Cycle number check**
cycle 수를 줄여서 PCR 합니다.
- 온도/시간 check**
 - 01. Annealing Temperature(AT) check**
Tm=(A+T) X 2 + (G+C) X 4, AT=Tm-(4~6°C) 이 산출법으로 설정 후 에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다.
 - 02. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)**



Non-Specific Band

- TRY**
 - 01. Annealing Temperature(AT)를 높여 PCR한다.**
 - 02. Band Helper™를 첨가한다.** [별도 구매, Cat. No. BB741-10h]
 - 03. Hot Start Enzyme을 사용하여 PCR을 진행한다.**

